Test SpermMar IgA

Test qualitatif de détection des anticorps anti-spermatozoïdes de la classe des IgA

Référence doc.: FP09 I01 R01 E.1
Édition: 25.11.2014

Conservateur : Azoture de sodium 0,09 %.
Conserver à une température comprise entre 2 °C et 8 °C – Ne pas congeler.
Réactif réservé à l'usage professionnel.

USAGE PRÉVU

Le test SpermMar IgA est un kit de diagnostic pour la détection des anticorps anti-spermatozoïdes de la classe des IgA dans le sperme. La présence d'anticorps anti-spermatozoïdes peut interférer avec la fonction des spermatozoïdes et la fixation sur la zone pellucide et la réaction acrosomique.

INFORMATIONS GÉNÉRALES

La présence d'anticorps anti-spermatozoïdes réagissant avec un ou plusieurs antigènes à la surface des spermatozoïdes est considérée comme typique et spécifique de l'infertilité immunitaire (1,3,22,24). Ces anticorps sont retrouvés chez environ 8 % des hommes infertiles (13).

Les anticorps anti-spermatozoïdes appartiennent à différentes classes immunologiques, mais seuls ceux des classes IgG et IgA ont une importance clinique (18). Les IgG montrent des effets cytotoxiques et sont correctement détectés sur les spermatozoïdes ou dans le sérum par le test SpermMar IgG. Lorsqu'ils sont liés à la fraction C3 du complément, les anticorps anti-spermatozoïdes de la classe des IgA, qui possèdent principalement des propriétés d'agglutination (14), apparaissent rarement en l'absence d'anticorps de la classe des IgG (6), mais ils pourraient jouer un rôle plus important dans l'infertilité masculine. En effet, les patients présentant une combinaison d'anticorps anti-spermatozoïdes de la classe des IgA et de la classe des IgG ou des anticorps IgA seuls ont très peu de chance de féconder leur partenaire par des méthodes naturelles (6,20). La détection des anticorps de la classe des IgA est par conséquent cruciale tant pour le diagnostic que pour le pronostic (21).

La plupart des anticorps anti-spermatozoïdes de la classe des IgA sont sécrétés par les glandes sexuelles annexes (23). Ils sont présents sur les spermatozoïdes et parfois dans le plasma séminal, mais sont généralement absents du sérum. Il n'est donc pas recommandé de procéder à la recherche d'anticorps anti-spermatozoïdes de la classe des IgA dans le sérum (18). En cas de faible concentration ou motilité des spermatozoïdes, une recherche d'anticorps anti-spermatozoïdes de la classe des IgA dans le plasma séminal peut être envisagée, bien que la signification clinique potentielle de ces anticorps soit discutable.

Le test SpermMar IgA direct est un test de détection d'anticorps recouvrant les spermatozoïdes réalisé sur des spermatozoïdes frais ou isolés à partir du plasma séminal après un cycle de suspension, centrifugation et remise en suspension dans un milieu approprié. Ces spermatozoïdes sont mélangés avec des particules revêtues d'anti-IgA humaines. La formation d'agglutinats mixtes de spermatozoïdes motiles et de particules indique la présence d'anticorps anti-spermatozoïdes IgA sur les spermatozoïdes (1,5,9,10,17).

CODES DE COMMANDE DES PRODUITS

SPMA_S	SpermMar IgA single – 50 tests
SPMA_C	SpermMar IgA complete – 50 tests

MATÉRIEL FOURNI AVEC LE TEST

» 1 flacon contenant 0,7 ml de particules SpermMar IgA
» Lames de microscope 76 x 26 mm*
» Lamelles couvre-objet 24 x 40 mm*
» Micropipettes capillaires étalonnées pour prélever 10 microlitres*
» Poire en caoutchouc*

*kit complet uniquement

MATÉRIEL NON FOURNI AVEC LE TEST

» Microscope optique (avec grossissement 400 x à 600 x, fond clair, fond sombre ou contraste de phase)
» Préservatif non spermicide (p. ex., Male Factor Pak - FertiPro NV)

MODE D'EMPLOI

PRÉLÈVEMENT ET PRÉPARATION DE L'ÉCHANTILLON

Il est préférable d'obtenir le sperme par masturbation. Lorsque des circonstances particulières s'opposent à la récolte par masturbation, les préservatifs en plastique spécifiques de FertiPro pour la récolte de sperme peuvent être utilisés (p. ex., Male Factor Pak). Les préservatifs ordinaires ne doivent pas être employés pour la récolte de sperme, parce qu'ils peuvent interférer avec la motilité et la viabilité des spermatozoïdes. Le sperme doit idéalement être examiné dans l'heure qui suit l'éjaculation.

PRÉPARATION DES RÉACTIFS

Les particules SpermMar IgA sont prêtes à l'emploi, mais doivent être soigneusement mélangées avant utilisation afin d'obtenir une suspension homogène.

TEST SPERMMAR IGA DIRECT DE DÉTECTION D'ANTICORPS ANTI-SPERMATOZOÏDES DE LA CLASSE DES IGA SUR LES SPERMATOZOÏDES HUMAINS

1. Amener les réactifs et les échantillons à température ambiante.
2. Placer sur une microlame :
   - 10 microlitres de sperme frais.
   - 10 microlitres de particules SpermMar IgA.

   Pour ce faire, utiliser les pipettes capillaires de 10 microlitres, si elles sont fournies dans le kit.
   Remarque : pour utiliser les micropipettes capillaires, insérer l'extrémité de la pipette marquée d'une ligne noire épaisse dans la poire en caoutchouc (sur environ 5 mm). Laisser la pipette se remplir par capillarité jusqu'au premier repère (10 microlitres). Ne pas aspirer de liquide dans la poire. Placer le bout du doigt au sommet de la poire. En maintenant la poire entre le pouce et le majeur, comprimer délicatement la poire pour expulser le liquide de la pipette.
3. Mélanger l'échantillon et le réactif 5 fois avec le bord d'une lamelle couvre-objet.
4. La lamelle couvre-objet est placée sur le mélange et celui-ci est examiné au microscope optique à un grossissement de 400 x à 600 x. L'utilisation de l'éclairage par contraste de phase ou à fond sombre peut faciliter la lecture de la lame.
5. Lire les résultats après 3 minutes. Rechercher la présence de particules fixées sur les spermatozoïdes motiles. Compter 100 spermatozoïdes pour déterminer le pourcentage de spermatozoïdes réactifs. Répéter la lecture après 10 minutes.
   Remarque : Conserver la préparation dans une chambre humide (p. ex., boîte de Petri contenant un morceau de papier-filtre humidifié).
6. Le diagnostic d'infertilité immunitaire est suspecté lorsque 10-39 % des spermatozoïdes motiles sont liés à des particules ; si 40 % des spermatozoïdes ou plus sont liés à des particules, l'infertilité immunitaire est hautement probable.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Lorsque le test est réalisé correctement, l'absence d'anticorps anti-spermatozoïdes est mise en évidence par des spermatozoïdes non couverts de particules se mouvant librement. Il est possible que les particules s'agglutinent entre elles, mais ce n'est habituellement pas le cas. En présence d'anticorps anti-spermatozoïdes, les spermatozoïdes réagiront avec les particules ; une puis plusieurs particules se fixent alors sur l'ensemble ou une partie des spermatozoïdes motiles. Le pourcentage de spermatozoïdes motiles montrant cette agglutination mixte est directement lié à l'importance de la réaction immunitaire.

En règle générale, la proportion de spermatozoïdes motiles réagissant lors du test SpermMar IgA est inférieure à celle réagissant lors du test SpermMar IgG, mais le contraire est parfois vrai (12). Dans de rares cas, une réaction positive au test SpermMar IgA est observée en l'absence de toute réaction au test SpermMar IgG, ce qui indique la présence d'anticorps sécrétoires de la classe des IgA en l'absence d'anticorps de la classe des IgG. Une réaction d'agglutination mixte de 40 % ou plus dans le sperme indique une réaction positive au test SpermMar IgA.

LIMITES DE LA MÉTHODE

Le test SpermMar IgA direct ne peut être réalisé que si des spermatozoïdes motiles sont présents dans l'échantillon de sperme. Les échantillons présentant une concentration ou une motilité très faible des spermatozoïdes peuvent donner des résultats faux négatifs.

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE

Plusieurs centaines d'échantillons de sperme ont été analysées au moyen de la réaction à l'antiglobuline mixte directe et du test SpermMar direct pour IgG. Les résultats ont été similaires dans 97 % des cas. Dans 3 % des cas, le test SpermMar a détecté des anticorps alors que le test de réaction à l'antiglobuline mixte utilisant des globules rouges revêtus était négatif. Dans ces circonstances, la proportion de spermatozoïdes réagissant au test SpermMar était habituellement faible (14). L'exactitude des résultats du test SpermMar IgA a été avérée après comparaison avec l'immunofluorescence et la néphélométrie.

CONSERVATION DU RÉACTIF

Conservé dans des conditions appropriées, le réactif SpermMar IgA est stable pendant 12 mois à compter de la date de fabrication. Le réactif SpermMar IgA doit être conservé à une température comprise entre 2 °C et 8 °C lorsqu'il n'est pas utilisé. NE PAS CONGELER LE RÉACTIF.

MISES EN GARDE ET PRÉCAUTIONS

Manipuler tous les échantillons dans les conditions prévues pour les agents susceptibles de transmettre le VIH ou l'hépatite. Toujours porter des vêtements de protection lors de la manipulation des échantillons. SpermMar IgA contient 0,1 % de sérum-albumine bovine provenant des États-Unis.

BIBLIOGRAPHIE

1. BOETTCHER B., HJORT T., RUMKE Ph., SHULMAN S. et VYAZOV O.E. (éditeurs). Auto and iso-antibodies to antigens of the human reproductive system. 1. Results of an international comparative study of antibodies to spermatozoa and other antigens detected in sera from infertile patients deposited in the WHO Reference bank for reproductive immunology. *Acta Pathol Microbiol Scand*, 1977, vol. 258 (suppl.), p. 1-69.
2. COMHAIRE F.H. et KUNNEN M. Factors affecting the probability of conception after treatment of subfertile men with varicocele by transcatheter embolisation with Bucrylate. *Fertil Steril*, 1985, vol. 43, p. 781-786.
3. FRIBERG J. Immunoglobulin concentration in serum and seminal fluid from men with and without sperm-agglutinating antibodies. *Obstet. Gynecol.*, 1980, vol. 136, p. 671-675.
4. GOLOMB J., VARDINON H., HOMONNAI Z.T., BRAF Z. et YUST I. Demonstration of antispermatozoal antibodies in varicocele-related infertility with an enzymlinked Immunosorbent assay (ELISA). *Fertil Steril*, 1986, vol. 45, p. 397-402.
5. JAGER S., KREMER J. et VAN SLOCHTEREN-DRAAISMA T. A simple method of screening for antisperm antibodies in the human male.

Detection of spermatozoal surface IgG with the direct mixed antiglobulin reaction carried out on untreated fresh human semen. *Int. J. Fertil.*, 1978, vol. 23, p. 12-21.
6. JAGER S., KREMER J., KUIKEN J. et VAN SLOCHTEREN-DRAAISMA T. Immunoglobulin class of antispermatozoal antibodies from infertile men and inhibition of in vitro sperm penetration into cervical mucus, IntJ. *Androl.*, 1980, vol. 3, p. 1-14.
7. RUMKE P. The origin of immunoglobulins in semen. *Clin. Exp. Immunol.*, 1976, vol. 17, p. 287-297.
8. SHULMAN J.F. et SHULMAN S. Methylprednisolone treatment of immunologic infertility in the male. *Fertil Steril*, 1982, vol. 38, p. 591-599.
9. STEDRONSKA J. et HENDRY W.F. The value of the mixed antiglobulin reaction (MAR-Test) as an addition to routine seminal analysis in the evaluation of the subfertile couple. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 1983, vol. 3, p. 89-91.
10. VERMEULEN L. et COMHAIRE F.H. Le test <MAR> aux particules de Latex, et le test spermatoxique selon Suominen : simplification et nouveauté dans l'arsenal du diagnostique immunologique. *Contraception, Fertilité, Sexualité*, 1983, vol. 11 (suppl.), p. 381-384.
11. O.M.S. 1984 : Workshop on the standardized investigation of the infertile couple, modérateur P. Rowe, coordinateur M. Darling. *Fertil Steril* (éditeurs) R.F. HARRISON, J. BONNAR et W. THOMPSON. Publ. M.T.P.-Press Ltd. (Lancaster, Boston, La Haye, Dordrecht), 1984, p. 427-431.
12. O.M.S. Laboratory manual for semen analysis and sperm cervical mucus interaction. Publ. Cambridge University Press, 2010.
13. ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTÉ Towards more objectivity in diagnosis and management of male infertility. *Int J Androl*, 1987, Suppl 7.
14. KREMER J. et JAGER S. The significance of antisperm antibodies for spermcervical mucus interaction. *Hum. Reprod.*, 1992, vol. 7, p. 781-784. 15. KAY D.J. et BOETTCHER B. Comparison of the SpermMar test with currently accepted procedures for detecting human sperm antibodies. *Reprod. Fer. Dev.*, 1992, vol. 4, p. 175-181.
15. ACKERMAN S., Mc GUIRE G., FULGHAM D.L. et ALEXANDER N. An evaluation of a commercially available assay for the detection of antisperm antibodies. *Fertil Steril*, 1988, vol. 49, p. 732-734.
16. BRONSON R, COOPER G et ROSENFELD D. Sperm antibodies: their role in infertility. *Fertil Steril*, 1984, vol. 42, p. 171-183.
17. CLARKE GN, STOJANOFF A, CAUCHI MN et JOHNSTON WIH. The immunoglobulin class of antispermatozoal antibodies in serum. *Am J Reprod Immunol Microbiol*, 1985, vol. 7, p. 143-147.
18. HINTING A, VERMEULEN L et COMHAIRE F. The indirect mixed antiglobulin reaction test using a commercially available kit for the detection of antisperm antibodies in serum. *Fertil Steril*, 1988, vol. 49, p. 1039-1044.
19. MEINERTZ H et HJORT T. Detection of autoimmunity to sperm: mixed antiglobulin reaction (MAR) test or sperm agglutination? A study on 537 men from infertile couples. *Fertil Steril*, 1986, vol. 46, p. 86-91.
20. PARSLOW JM, POULTON TA, BESSER GM et HENDRY WF. The clinical relevance of classes of immunoglobulins on spermatozoa from infertile and vasectomized males. *Fertil Steril*, 1985, vol. 43, 621.
21. RUMKE P et HELLINGA. Autoantibodies against spermatozoa in sterile men. *Am J Clin Pathol*, 1959, vol. 32, p. 357-363.
22. UELING DT. Secretory IgA in seminal fluid. *Fertil Steril*, 1971, vol. 22, p. 769-773.
23. WILSON L. Sperm agglutinins in human semen and blood. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1954, vol. 85, p. 652-655.

ASSISTANCE TECHNIQUE

FertiPro N.V.
Industriepark Noord 32, 8730 Beernem, Belgique
Tél. +32 (0)50 79 18 05
Fax +32 (0)50 79 17 99
URL : www.fertipro.com
E-mail : info@fertipro.com

CE IVD

Test SpermMar IgG

Test qualitatif au latex de détection des anticorps anti-spermatozoïdes

Référence doc.: FP09 I01 R01 E.1
Édition: 25.11.2014

Conservateur : Azoture de sodium 0,09 %.
Conserver à une température comprise entre 2 °C et 8 °C – Ne pas congeler.
Réactif réservé à l'usage professionnel.

USAGE PRÉVU

Le test SpermMar IgG est un kit de diagnostic pour la détection des anticorps anti-spermatozoïdes de la classe des IgG dans le sperme, le mucus cervical ou le sérum humain. Le test SpermMar IgG direct peut être effectué sur du sperme humain non traité, pour autant qu'il contienne des spermatozoïdes motiles ; le test SpermMar IgG indirect peut être utilisé sur le sérum et le mucus cervical.
La présence d'anticorps anti-spermatozoïdes peut interférer avec la fonction des spermatozoïdes et la fixation sur la zone pellucide et la réaction acrosomique.

INFORMATIONS GÉNÉRALES

La présence d'anticorps anti-spermatozoïdes réagissant avec des antigènes à la surface des spermatozoïdes est considérée comme typique et spécifique de l'infertilité immunitaire (2,4,11). Ces anticorps sont retrouvés chez environ 8 % des hommes infertiles (13).
Les anticorps anti-spermatozoïdes appartiennent à deux classes immunologiques : les IgA et les IgG. Selon certaines données, les IgA revêtiraient une importance clinique supérieure aux anticorps IgG. Les anticorps IgA sont toutefois rarement retrouvés en l'absence d'anticorps IgG. La recherche d'anticorps IgG est donc suffisante pour le dépistage de routine (6,7,14).
Le test SpermMar IgG direct est réalisé en mélangeant du sperme frais non traité avec des particules de latex préalablement revêtues d'IgG humaines. Un antisérum anti-IgG humaines monospécifique est ajouté à ce mélange. La formation d'agglutinats composés de particules et de spermatozoïdes motiles indique la présence d'anticorps IgG sur les spermatozoïdes (1,5,9,10). Dans le test SpermMar IgG indirect, des spermatozoïdes motiles lavés du donneur sont incubés avec du sérum de patient dilué et décomplémenté d'origine masculine ou féminine. Si le sérum contient des anticorps anti-spermatozoïdes, ceux-ci couvriront les spermatozoïdes du donneur, qui montreront une réaction positive lors d'un test SpermMar IgG ultérieur.

CODES DE COMMANDE DES PRODUITS

SPMG_S	SpermMar IgG single – 50 tests
SPMG_C	SpermMar IgG complete – 50 tests

MATÉRIEL FOURNI AVEC LE TEST

» 1 flacon contenant 0,7 ml de particules de latex SpermMar IgG.
» 1 flacon contenant 0,7 ml d'antisérum SpermMar IgG.
» Microlames 76 x 26 mm.*
» Lamelles couvre-objet 24 x 40 mm.*
» Micropipettes capillaires étalonnées pour prélever 10 microlitres.*
» Poire en caoutchouc.*

* kit complet uniquement

MATÉRIEL NON FOURNI AVEC LE TEST

» Microscope optique (avec grossissement 400 x à 600 x, fond clair, fond sombre ou contraste de phase).
» Milieu EBSS sans protéines ajoutées pour le test SpermMar IgG indirect (p. ex., Sigma-Aldrich - E2888).
» Dispositif d'aspiration du mucus cervical (p. ex., In/Out - Gynetics, Belgique ; Spirette™ - CCD, France ; Aspiglaire™ - CBS, France).
» Préservatif non spermicide (p. ex., Male Factor Pak - FertiPro NV).
» Plaque de micro titrage (p. ex., Kima 650 101).

MODE D'EMPLOI

PRÉLÈVEMENT ET PRÉPARATION DE L'ÉCHANTILLON

Il est préférable d'obtenir le sperme par masturbation. Lorsque des circonstances particulières s'opposent à la récolte par masturbation, les préservatifs en plastique spécifiques de FertiPro pour la récolte de sperme peuvent être utilisés (p. ex., Male Factor Pak). Les préservatifs ordinaires ne peuvent pas être employés pour la récolte de sperme, parce qu'ils peuvent interférer avec la motilité et la viabilité des spermatozoïdes.
Le sperme doit idéalement être examiné dans l'heure qui suit l'éjaculation. Le mucus cervical peut être aspiré à l'aide d'un dispositif spécialement conçu dans ce but (p. ex., In/Out - Gynetics, Belgique ; Spirette™ - Laboratoire CCD, France ; Aspiglaire - CBS, France).

PRÉPARATION DES RÉACTIFS

Les particules de latex SpermMar IgG sont prêtes à l'emploi, mais doivent être soigneusement mélangées avant utilisation afin d'obtenir une suspension homogène. L'antisérum SpermMar IgG est prêt à l'emploi.

TEST SPERMMAR IGG DIRECT

1. Amener les réactifs et les échantillons à température ambiante.
2. Placer sur une microlame :
   » 10 microlitres de sperme frais non traité
   » 10 microlitres de particules de latex SpermMar IgG
   » 10 microlitres d'antisérum SpermMar IgG

   Pour ce faire, utiliser les pipettes capillaires de 10 microlitres fournies (test complet).

Remarque : Pour utiliser les micropipettes capillaires : Insérer l'extrémité de la pipette marquée d'une ligne noire épaisse dans la poire en caoutchouc (sur environ 5 mm). Laisser la pipette se remplir par capillarité jusqu'au premier repère (10 microlitres). Ne pas aspirer de liquide dans la poire en caoutchouc. En maintenant la poire entre le pouce et le majeur, comprimer délicatement la poire pour expulser le liquide de la pipette.

3. Mélanger l'échantillon et le réactif au latex 5 fois avec le bord d'une lamelle couvre-objet.
4. Ajouter l'antisérum au mélange formé par le réactif au latex et l'échantillon.
5. La lamelle couvre-objet est placée sur le mélange et celui-ci est observé au microscope optique au grossissement 400 x ou 600 x (l'utilisation de l'éclairage par contraste de phase ou à fond sombre peut faciliter la lecture des lames).
6. Lire les résultats après 2-3 minutes. Rechercher la présence de particules de latex fixées sur les spermatozoïdes motiles. Compter 100

spermatozoïdes pour déterminer le pourcentage de spermatozoïdes réactifs.

Si aucune particule n'est observée sur les spermatozoïdes, répéter la lecture après 10 minutes.

Remarque : Conserver la préparation dans une chambre humide (p. ex., boîte de Petri contenant un morceau de papier-filtre humidifié).

TEST SPERMMAR IGG INDIRECT

1. Amener tous les réactifs et échantillons à température ambiante.
2. Inactiver les échantillons de sérum en les chauffant à 56 °C pendant 30 minutes si des tubes à essai en verre sont employés, pendant 45 minutes si les tubes à essai sont en plastique.
3. Amener le pH du milieu EBSS à 7,4-7,5 (en ajoutant du NaOH ou de l'HCl 0,1 N).
4. Laver les spermatozoïdes motiles du donneur par migration ascendante dans le milieu dont le pH a été ajusté (pH = 7,4-7,5). La migration ascendante doit être réalisée dans des tubes à essai à fond rond en plastique stérile ou en verre de 5 ml à 37 °C pendant 45 minutes. Amener la concentration du sperme à 20 x 10^6 sp/ml au moyen du milieu EBSS (pH = 7,4-7,5)
5. Diluer en série l'échantillon de sérum inactivé jusqu'à obtenir une proportion 1:16 avec le milieu EBSS (pH = 7,4-7,5) sur une plaque de titrage.
6. Mélanger 50 microlitres de l'échantillon de sérum inactivé dilué (1:16) de l'étape 5 avec 50 microlitres des spermatozoïdes motiles lavés du donneur de l'étape 4 dans un puits libre de la plaque de titrage. Incuber pendant 60 minutes à 37 °C.
7. Placer sur une microlame :
   - » 10 microlitres du mélange sperme-sérum.
   - » 10 microlitres de particules de latex SpermMar IgG.
   - » 10 microlitres d'antisérum SpermMar IgG.
8. Mélanger l'échantillon et le réactif au latex 5 fois avec le bord d'une lamelle couvre-objet.
9. Ajouter l'antisérum au mélange formé par le réactif au latex et l'échantillon.
10. La lamelle couvre-objet est placée sur le mélange et celui-ci est observé au microscope optique au grossissement 400 x ou 600 x (l'éclairage par contraste de phase ou à fond sombre peut également être utilisé pour faciliter la lecture).
11. Lire les résultats après 2-3 minutes. Rechercher la présence de particules de latex fixées sur les spermatozoïdes motiles. Compter 100 spermatozoïdes pour déterminer le pourcentage de spermatozoïdes réactifs. Si aucune particule n'est observée sur les spermatozoïdes, répéter la lecture après 10 minutes.

Remarque : Conserver la préparation dans une chambre humide (p. ex., boîte de Petri contenant un morceau de papier-filtre humidifié). Toujours couvrir de Parafilm pour éviter toute évaporation durant l'incubation.

RÉSULTATS

Lorsque le test est réalisé correctement, l'absence d'anticorps anti-spermatozoïdes est mise en évidence par des spermatozoïdes non couverts de particules de latex se mouvant librement. Les particules de latex elles-mêmes

formeront des agglutinats de plus en plus volumineux démontrant la réactivité des réactifs. Toutefois, en présence d'anticorps anti-spermatozoïdes, les spermatozoïdes seront partiellement couverts de particules de latex. Dans certains cas, les spermatozoïdes peuvent même être immobilisés par l'énorme quantité de particules de latex adhérentes. Dans le test SpermMar IgG direct, le diagnostic d'infertilité immunitaire est suspecté lorsque 10-39 % des spermatozoïdes motiles sont couverts de particules de latex ; si 40 % des spermatozoïdes ou plus sont couverts, l'infertilité immunitaire est hautement probable. Le diagnostic doit être confirmé par des tests supplémentaires. Il est recommandé de réaliser le test SpermMar IgA chaque fois qu'un résultat positif est obtenu. Dans le test SpermMar IgG indirect, l'observation d'une réaction d'au moins 40 % entre les particules de latex revêtues et les spermatozoïdes motiles est généralement acceptée comme seuil inférieur d'une activité significative.

LIMITES DE LA MÉTHODE

Le test SpermMar IgG direct ne peut être réalisé que si des spermatozoïdes motiles sont présents dans le sperme. Les échantillons dont la motilité est faible peuvent générer des résultats faux négatifs ; dans ce cas, il est suggéré de réaliser le test SpermMar IgG indirect.

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE

TEST SPERMMAR IGG DIRECT

Plusieurs centaines d'échantillons de sperme ont été analysés avec le test MAR direct (réaction à l'antiglobuline mixte basée sur les globules rouges) et avec le test SpermMar IgG. Les résultats ont été similaires dans 97 % des cas. Dans 3 % des cas, le test MAR basé sur les globules rouges était négatif alors que le test SpermMar IgG détectait des spermatozoïdes couverts d'anticorps, bien qu'en nombres relativement faibles (< 40 %), ce qui démontre la sensibilité supérieure du test SpermMar IgG (10,16).

TEST SPERMMAR IGG INDIRECT

En utilisant la valeur de 40 % de réaction entre les spermatozoïdes motiles et les particules de latex revêtues comme seuil inférieur d'une activité significative, le test SpermMar IgG indirect s'est avéré positif dans certains cas où le test d'agglutination sur plateau ou d'autres procédures actuellement acceptées étaient négatifs.

Le test SpermMar IgG s'est montré plus facile d'emploi et plus sensible (15). Un résultat faux négatif au test SpermMar IgG indirect par comparaison avec le test d'agglutination sur plateau est survenu dans des cas où des IgM étaient présentes dans le sérum ; l'importance clinique de ce phénomène est douteuse. Il est recommandé de confirmer un résultat positif au test SpermMar IgG indirect à l'aide de tests supplémentaires de détection de l'activité agglutinante (test d'agglutination sur plateau) et de l'activité cytotoxique, comme le test de cytotoxicité par libération d'ATP. Ces derniers tests permettront également d'identifier le type d'effet immunologique exercé par les anticorps anti-spermatozoïdes.

CONSERVATION DES RÉACTIFS

Les réactifs du test SpermMar IgG sont stables pendant 18 mois à compter de la date de fabrication. Les réactifs du test SpermMar IgG doivent être conservés à une température comprise entre 2 °C et 8 °C lorsqu'ils ne sont pas utilisés. NE PAS CONGELER.

MISES EN GARDE ET PRÉCAUTIONS

L'ensemble du matériel organique humain doit être considéré comme potentiellement infectieux. Manipuler tous les échantillons dans les conditions prévues pour les agents susceptibles de transmettre le VIH ou l'hépatite. Toujours porter des vêtements de protection lors de la manipulation des échantillons.

Les particules de latex SpermMar IgG contiennent 0,1 % de sérum-albumine bovine provenant des États-Unis.

Les particules de latex SpermMar IgG sont revêtues d'IgG humaines. Tout le matériel utilisé a fait l'objet d'un dépistage de l'hépatite B, de l'hépatite C et du VIH par le fabricant d'origine.

Témoins positif et négatif pour le test SpermMar IgG

Témoins à utiliser avec le test indirect de dosage des anticorps anti-spermatozoïdes (SpermMar IgG)

Référence doc.: FP09 I01 R01 E.1
Édition: 25.11.2014

Conservateur : Azoture de sodium 0,09 %.
Conserver à une température comprise entre 2 °C et 8 °C – Ne pas congeler.
Réactif réservé à l'usage professionnel.

USAGE PRÉVU

Le témoin SpermMar IgG positif et le témoin SpermMar IgG négatif sont conçus pour être employés en tant que contrôle de qualité avec le test SpermMar IgG.

INFORMATIONS GÉNÉRALES

La présence d'anticorps anti-spermatozoïdes réagissant avec des antigènes à la surface des spermatozoïdes est considérée comme typique et spécifique de l'infertilité immunitaire (2,4,11). Les anticorps anti-spermatozoïdes appartiennent à deux classes immunologiques : les IgA et les IgG. Selon certaines données, les IgA revêtiraient une importance clinique supérieure aux anticorps IgG. Les anticorps IgA sont toutefois rarement retrouvés en l'absence d'anticorps IgG. La recherche d'anticorps IgG est donc suffisante en tant que méthode de dépistage de routine (6,7,14).

Dans le test SpermMar IgG indirect, des spermatozoïdes motiles lavés du donneur sont incubés avec du sérum de patient dilué et décomplémenté d'origine masculine ou féminine. Si le sérum contient des anticorps anti-spermatozoïdes, ceux-ci couvriront les spermatozoïdes du donneur, qui montreront une réaction positive lors d'un test SpermMar IgG ultérieur.

Le témoin SpermMar IgG positif contient du sérum de patient prêt à l'emploi présentant des taux d'anticorps anti-spermatozoïdes supérieurs à 80 %. Le témoin SpermMar IgG négatif contient du sérum de patient prêt à l'emploi présentant des taux d'anticorps anti-spermatozoïdes inférieurs à 20 %.

CODES DES PRODUITS ET CONTENU DES KITS

SPMG_P	1 flacon contenant 2,5 ml de sérum témoin positif pour le test SpermMar IgG.
SPMG_N	1 flacon contenant 2,5 ml de sérum témoin négatif pour le test SpermMar IgG.

MATÉRIEL FOURNI AVEC LE TEST

- » 1 flacon contenant 2,5 ml de sérum de patient décomplémenté dilué dans le milieu FertiCult Flushing sans sérum-albumine humaine.

MATÉRIEL NON FOURNI AVEC LE TEST

- » Test SpermMar IgG.
- » Lames de microscope.
- » Lamelles couvre-objet.
- » Microscope optique (avec grossissement 400 x à 600 x, fond clair, fond sombre ou contraste de phase).
- » Milieu EBSS (p. ex., Sigma-Aldrich – E2888).
- » Plaque de microtitrage (p. ex., Kima 650 101).

MODE D'EMPLOI

PRÉPARATION DES RÉACTIFS

Les témoins SpermMar IgG positif et négatif sont prêts à l'emploi.

Amener à température ambiante avant utilisation.

PRÉLÈVEMENT ET PRÉPARATION DE L'ÉCHANTILLON

Le sperme du donneur doit être obtenu par masturbation ou par d'autres méthodes recommandées par le médecin. Le sperme doit idéalement être examiné dans l'heure qui suit l'éjaculation.

PROCÉDURE

1. Amener tous les réactifs et échantillons à température ambiante.
2. Laver les spermatozoïdes motiles du donneur par migration ascendante dans le milieu EBSS dont le pH a été ajusté (pH = 7,4-7,5). La migration ascendante doit être réalisée dans des tubes à essai à fond rond en plastique stérile ou en verre de 5 ml à 37 °C pendant 45 minutes. Amener la concentration du sperme à 20 x 10^6 sp/ml au moyen du milieu (pH = 7,4-7,5).
3. Mélanger 50 microlitres de sérum témoin avec 50 microlitres des spermatozoïdes motiles lavés du donneur dans un puits libre de la plaque de microtitrage. Incuber pendant 60 minutes à 37 °C.
4. Placer sur une microlame :
   - » 10 microlitres du mélange sperme-sérum.
   - » 10 microlitres de particules de latex SpermMar IgG.
   - » 10 microlitres d'antisérum SpermMar IgG.
5. Mélanger l'échantillon et le réactif au latex 5 fois avec le bord d'une lamelle couvre-objet.
6. Ajouter également l'antisérum au mélange formé par le réactif au latex et l'échantillon.
7. La lamelle couvre-objet est placée sur le mélange et celui-ci est observé au microscope optique au grossissement 400 x ou 600 x (un éclairage par contraste de phase ou à fond sombre peut également être utilisé pour faciliter la lecture).
8. Lire les résultats après 2-3 minutes. Rechercher la présence de particules de latex fixées sur les spermatozoïdes motiles. Compter 100 spermatozoïdes pour déterminer le pourcentage de spermatozoïdes réactifs. Si aucune particule n'est observée sur les spermatozoïdes, répéter la lecture après 10 minutes.

Remarque : Conserver la préparation dans une chambre humide (p. ex., boîte de Petri contenant un morceau de papier-filtre humidifié). Toujours couvrir de Parafilm pour éviter toute évaporation durant l'incubation.

RÉSULTATS

Lorsque le test est réalisé correctement, l'absence d'anticorps anti-spermatozoïdes est mise en évidence par des spermatozoïdes non couverts de particules de latex se mouvant librement. Les particules de latex elles-mêmes formeront des agglutinats de plus en plus volumineux démontrant la réactivité des réactifs. Toutefois, en présence d'anticorps anti-spermatozoïdes, les spermatozoïdes seront partiellement couverts de particules de latex. Dans certains cas, les spermatozoïdes peuvent même être immobilisés par l'énorme quantité de particules de latex adhérentes.

- » Le test réalisé avec le témoin SpermMar IgG positif doit mettre en évidence au moins 80 % de spermatozoïdes motiles couverts de particules de latex.
- » Le témoin SpermMar IgG négatif doit mettre en évidence au plus 20 % de spermatozoïdes couverts de particules de latex.

LIMITES DE LA PROCÉDURE

Le test SpermMar IgG indirect ne peut être réalisé que si des spermatozoïdes motiles sont présents dans le sperme.

CONSERVATION DES RÉACTIFS

Conservés dans des conditions appropriées, les sérums témoins SpermMar IgG sont stables pendant 18 mois à compter de la date de fabrication. Les sérums témoins SpermMar IgG doivent être conservés à une température comprise entre 2 °C et 8 °C lorsqu'ils ne sont pas utilisés.

MISES EN GARDE ET PRÉCAUTIONS

L'ensemble du matériel organique humain doit être considéré comme potentiellement infectieux. Manipuler tous les échantillons dans les conditions prévues pour les agents susceptibles de transmettre le VIH ou l'hépatite. Toujours porter des vêtements de protection lors de la manipulation des échantillons. Bien que les témoins SpermMar IgG positif et négatif aient été soumis à un dépistage du VIH et de l'hépatite, l'utilisateur doit toujours porter des vêtements de protection lors de leur manipulation.

BIBLIOGRAPHIE

Voir verso.

ASSISTANCE TECHNIQUE

FertiPro N.V.
Industriepark Noord 32, 8730 Beernem, Belgique
Tél. +32 (0)50 79 18 05
Fax +32 (0)50 79 17 99
URL : www.fertipro.com
E-mail : info@fertipro.com